

Análise imunohistoquímica da pele fotoenvelhecida após tratamento com o ácido 5 delta aminolevulínico

Immunohistochemical analysis of photodamaged skin after treatment with delta 5-aminolevulinic acid

Autores:

Ana Carolina Junqueira Ferolla¹
Bhertha Tamura²
Consuelo Junqueira Rodrigues³
Luis Carlos Cucé⁴

¹ Doutora em Dermatologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

² Doutora em Dermatologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

³ Professora associada do departamento de ortopedia e traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Professor chefe do departamento de dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

Correspondência para:

Dra. Bhertha Tamura
Rua Ituxi, 58/603 - Saúde
04055-020 - São Paulo - SP
Email: bhertha.tamura@uol.com.br

Data de recebimento: 14/06/2011

Data de aprovação: 15/12/2011

Trabalho realizado no Hospital das clínicas da Universidade de São Paulo (USP) - São Paulo (SP), Brasil.

Suporte financeiro: Nenhum
Conflitos de interesse: Nenhum

RESUMO

Introdução: O mecanismo de destruição da célula alvo na terapia fotodinâmica compreende a destruição celular direta, a injúria ao estroma vascular e a ativação do sistema imune.

Objetivo: Estudar a resposta imune da pele humana fotoenvelhecida ao tratamento com terapia fotodinâmica.

Métodos: Treze pacientes femininas foram submetidas a três sessões de tratamento com o ácido 5 delta aminolevulínico associado à luz de diodo de 630nm. Foi avaliada a resposta imunohistoquímica do sistema imunológico da pele por meio dos marcadores: anti-CD1a, anti-CD4+, anti-CD8+, anti-TNF α , anti-IFN γ e anti-IL4; antes, 24 horas após a primeira sessão e 21 dias após a terceira sessão. Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva: média, desvio padrão, valor mínimo e máximo, e mediana.

Resultados: 21 dias após o ultimo tratamento houve diminuição do número de linfócitos CD4 e CD8, aumento de interleucina 4 na epiderme e derme, diminuição do TNF- α na epiderme e aumento na derme. A população de células Langerhans e do INF- γ não mudou.

Conclusão: Em relação ao sistema imune esta terapia não mostrou alteração das células de Langerhans e, por isso, pouca imunossupressão local. A apoptose dos linfócitos CD4 e CD8 foi evidenciada sugerindo que a terapia fotodinâmica possa ser útil em doenças inflamatórias. O estudo mostrou diminuição do TNF α na epiderme e aumento na derme além do aumento da IL4 em ambas, o que sugere resposta do tipo humoral neste protocolo, o que também pode ser evidenciado pela ausência do INF γ .

Palavras-chave: fotoquimioterapia; ácido aminolevulinico; envelhecimento da pele.

ABSTRACT

Introduction: Photodynamic therapy destroys target cells by directly harming them, injuring the vascular stroma, and activating the immune system.

Objective: To study photoaged skin's immune response to photodynamic therapy.

Methods: Thirteen female patients underwent three treatment sessions with delta 5-aminolevulinic acid combined with 630 nm diode light. The immunohistochemical response of the skin's immune system was evaluated using the markers anti-CD1a, anti-CD4+, anti-CD8+, anti-TNF α , anti-IFN γ and anti-IL4 before, 24 hours after the first session, and 21 days after the third session.

Results: At the final evaluation, patients demonstrated a decrease in CD4 and CD8 lymphocytes, an increase in interleukin-4 in the epidermis and dermis, and a reduction and an increase of TNF- α in the epidermis and dermis, respectively. The Langerhans cell and INF- γ populations remained unchanged.

Conclusion: Regarding the immune system, photodynamic therapy did not cause changes in Langerhans cells; therefore, there was little local immunosuppression. CD4 and CD8 lymphocyte apoptosis was observed, suggesting that photodynamic therapy can be useful in treating inflammatory diseases. The changes in TNF- α and an increase of IL4 in the dermis and epidermis suggest a humoral type response, which was also evidenced by the absence of INF γ .

Keywords: photochemotherapy; aminolevulinic acid; skin aging.

INTRODUÇÃO

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma perspectiva no tratamento de tumores e atualmente está sendo empregada no tratamento de doenças inflamatórias como psoríase, acne, hiperplasia sebácea, rosácea e mais recentemente o fotoenvelhecimento.¹⁻⁷ Baseia-se no acúmulo específico de um agente fotossensibilizante no tecido alvo que posteriormente é ativado pela luz, e na presença de oxigênio forma o oxigênio *singlet*, responsável pela injúria da célula alvo.¹ O mecanismo de destruição da célula alvo compreende: destruição celular direta, injúria ao estroma vascular e ativação do sistema imune.¹ O papel da TFD é causar uma reação citotóxica no tecido, mas uma resposta pós-TFD, envolvendo reação imune inflamatória; inata e adaptativa ocorre para auxiliar na erradicação bem sucedida de células residuais remanescentes.⁸ Embora a reação imune seja menos importante que outros efeitos no estágio de ablação celular, depois da terapia, seu papel parece ser decisivo no controle de longa duração do efeito da terapia.⁹

A TFD em alta intensidade destrói células imunes importantes; já em baixa intensidade estimula o sistema imune. Por um lado, esse processo ocorre pela ativação de monócitos e macrófagos e produção de mediadores antiinflamatórios; por outro, ocorre pela maciça atração de neutrófilos no lugar da inflamação, havendo um estímulo para a produção de mediadores específicos.^{8,9}

No tratamento dos tumores, os principais fatores que parecem estar envolvidos na indução dessa resposta é a expressão de várias citocinas e outros genes importantes imunologicamente. Entre as citocinas, cuja expressão foi relatada como sendo modulada pela TFD, estão principalmente, a IL6, IL10 e TNF α , além da IL1 β , IL2, fator estimulante de colônia de granulócitos, fator de crescimento epidérmico e a modulação da expressão de vários genes envolvidos em adesão celular e apresentação de antígeno.^{8,9}

MÉTODOS

Foram estudados, prospectivamente, treze pacientes, do sexo feminino, com idade entre 50 e 78 anos (média 64), os critérios de inclusão foram: pacientes do sexo feminino, fototipo I a IV,¹⁰ presença de fotoenvelhecimento Grau I-IV, segundo a classificação de Glogau.¹¹ Os critérios de exclusão foram: uso recente (um mês) de método abrasivo ou substância queratolítica; doenças sistêmicas e cirurgias recentes; tendência à formação de quelóide e/ou cicatriz hipertrófica; câncer de pele; antecedentes pessoais ou familiares de melanoma; uso de medicações fotossensibilizantes ou imunossupressoras. As pacientes assinaram um Termo de Consentimento Livre Esclarecido e o estudo foi conduzido conforme as diretrizes da Declaração de Helsinki de 2000.

As pacientes foram submetidas à biópsia na região pré-auricular direita. Esta foi localizada e minuciosamente medida do início ao final do lóbulo da orelha, dividida em 3 partes onde foi realizada cada biópsia. Na primeira região foi realizada a biópsia antes do procedimento, na segunda a biópsia de controle 24 horas após a primeira sessão e na terceira região o controle 21 dias após a terceira sessão.

Foram realizadas três sessões de terapia fotodinâmica (PDT) e o intervalo entre as sessões foi de 15 dias. Após 24 horas

da primeira aplicação foi realizada foto de controle e biópsia na segunda. Após 21 dias da terceira sessão foi realizada novamente foto e biópsia na terceira região. Para a aplicação do ácido 5-delta-aminolevulínico a pele da face foi previamente limpa com álcool e então o ácido 5-delta-aminolevulínico 20% foi aplicado de forma homogênea com o bastão aplicador Levulan® Kerastick™ (Stiefel, São Paulo, Brasil) O ALA foi mantido na pele da face por 2 horas e posteriormente irradiada luz com aparelho de LED (Light Emmittig Diodes) cuja intensidade de saída era de 3100 mw/cm², intensidade óptica de 100 mw/cm², com superfície ativa de 40x80mm emitindo luz com comprimento de onda de 630 nm, por 10 minutos em cada hemiface. As pacientes foram orientadas em relação aos possíveis efeitos colaterais, fotoproteção, uso de produtos químicos sem autorização prévia, retorno nas datas estabelecidas e no caso de desmaçamento, a não retirada da pele.

Os cortes histológicos da pele das pacientes, antes, 24 horas e 21 dias após o tratamento foram preparados em parafina e seguiram para a reação de imunohistoquímica segundo o método do complexo avidina-biotina-peroxidase.¹² Nesse último método, procedeu-se à incubação com os anticorpos primários nas seguintes diluições: CD1 1/20, CD4 1/400 e CD8 1/50 (DAKO) e os outros anticorpos utilizados foram o IFN γ 1/30 (RD Systems – código MAB285), IL4 1/20 (RD System – código AF-204-NA) e TNF α 1/20 (RD System – código AF-210-NA).

As lâminas, submetidas à imunohistoquímica foram analisadas sob microscópio de luz Zeiss com objetiva de 20x e ocular de 10x. A avaliação quantitativa (determinação de área, comprimento e contagem de partículas) foi realizada com auxílio de Sistema Analisador de Imagem (Kontron Eletronik 300, ZEISS). Todas as amostras foram avaliadas por dois investigadores independentes. Os dados quantitativos histomorfométricos, relativos ao número de células CD1 positivas e os dados semi-quantitativos da reação inflamatória, células CD4 e CD8 positivas e reação positiva IL4, IFN γ e TNF α foram analisados por meio de Estatística Descritiva: média, desvio padrão, valor mínimo e máximo e mediana. Os Testes Estatísticos foram realizados com auxílio do programa SigmaStat (Jandel Cientific, CA, USA), aceitando como nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS

Treze pacientes, com fotoenvelhecimento facial realizaram tratamento com terapia fotodinâmica e ALA tópico. Segundo a classificação de Glogau,¹¹ seis pacientes (1, 4, 9, 10, 11 e 12) apresentavam fotoenvelhecimento grau III (46,15%), cinco (2, 3, 5, 6 e 13) grau IV (38,46%) e duas (7 e 8) grau II (15,38%). A idade variou entre 50 e 78 anos (média 64). Em relação ao fototipo, duas pacientes (2 e 5) apresentavam fototipo I (15,38%), cinco (1, 3, 6, 9 e 12) fototipo II (38,46%), cinco (4, 7, 10, 11 e 13) fototipo III (38,46%) e uma (8) IV (7,69%).

Os resultados da análise histológica, histomorfometria e imunohistoquímica do sistema imune apenas foram avaliados em 12 pacientes devido a problemas técnicos com a biópsia. A aná-

lise dos cortes histológicos submetidos à reação imunohistoquímica para anti-CD8 revelou células inflamatórias mononucleares CD8 positivas presentes ao redor de vasos e anexos na derme (Figuras 1 A,B). A avaliação morfométrica foi semi-quantitativa e os resultados individuais de cada um dos casos estudados.

Comparando-se os três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré, 24 horas e 21 dias após a 3ª sessão, através do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos haver diferença significativa ($H=10,185$, $p=0,006$). Para melhor especificar as diferenças, aplicamos o método de comparação múltipla de Dunn, que revelou diferença altamente significativa entre intensidade de células CD8 antes e pós-tratamento, com redução de células CD8 no pós-tratamento ($Q=2,68$; $p<0,05$). O gráfico 1 mostra os resultados em gráfico de barras, estando representado pela média dos valores dos casos estudados.

Em relação ao anticorpo CD4, para evidenciar os linfócitos, a análise dos cortes histológicos submetidos à reação imunohistoquímica para anti-CD4 revelou células inflamatórias mononucleares CD4 positivas presentes ao redor de vasos e anexos na derme. A avaliação morfométrica foi semi-quantitativa.

Comparando-se os três momentos estudados do mesmo tratamento para células CD4+ na derme, por meio do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos não haver diferença significativa ($H=4,821$, $p=0,090$).

Em relação ao anticorpo CD1, para evidenciar as células de Langerhans, verificamos que 24 horas após e ao final do tratamento com terapia fotodinâmica as células de Langerhans estão presentes na epiderme (Figura 2 A,B).

A avaliação morfométrica foi quantitativa avaliando o número de células CD1+ por área de epiderme. A média e desvio padrão foram: CD1 antes = $0,000458 \pm 0,000151$; CD1 24hs = $0,000429 \pm 0,000255$; CD1 final = $0,000934 \pm 0,000810$.

Comparando-se os três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré - 24 horas - pós para células CD1+ na epiderme, através do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos não haver diferença significativa ($H=1,977$, $p=0,372$).

Em relação ao anticorpo IL4, para evidenciar a intensidade de Interleucina 4, verificamos que o tratamento com terapia fotodinâmica torna presente a IL4 na epiderme (Figura 3) e na derme (Figura 4).

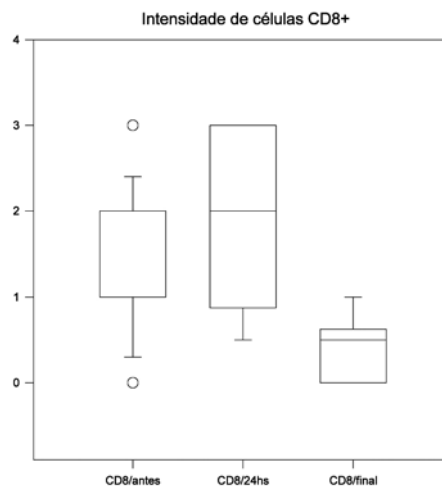


Gráfico 1: Gráfico de caixas mostrando a intensidade de células CD8+ na derme de pele pré (antes), 24 horas e ao final do tratamento.

A avaliação morfométrica foi semi-quantitativa avaliando a intensidade da reação imunohistoquímica na epiderme e derme separadamente. Comparando-se a intensidade de IL4 na epiderme nos três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré, 24 horas-pós, através do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos haver diferença significativa ($H=16,090$, $p<0,001$). Para melhor especificar as diferenças, aplicamos o método de comparação múltipla de Dunn, que revelou diferença altamente significativa entre intensidade de IL4 na epiderme antes e pós-tratamento, com aumento de IL4 no pós-tratamento na epiderme ($Q=4,00$; $p<0,05$). O gráfico 2 mostra os resultados em gráfico de barras, estando representado pela média dos valores dos casos estudados.

Comparando-se a intensidade de IL4 na derme nos três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré, 24 horas-pós, através do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos haver diferença significativa ($H=13,77$, $p=0,001$). Para melhor especificar as diferenças, aplicamos o método de comparação múltipla de Dunn, que revelou diferença altamente significativa entre intensidade de IL4 na derme antes e pós-tratamento, com aumento de IL4 no pós-tratamento ($Q=3,71$; $p<0,05$). O gráfico 3 mostra os resultados em gráfico de caixas, estando representado pela média dos valores dos casos estudados.

Em relação ao anticorpo TNF α , verificamos que o tratamento com terapia fotodinâmica reduz a intensidade de

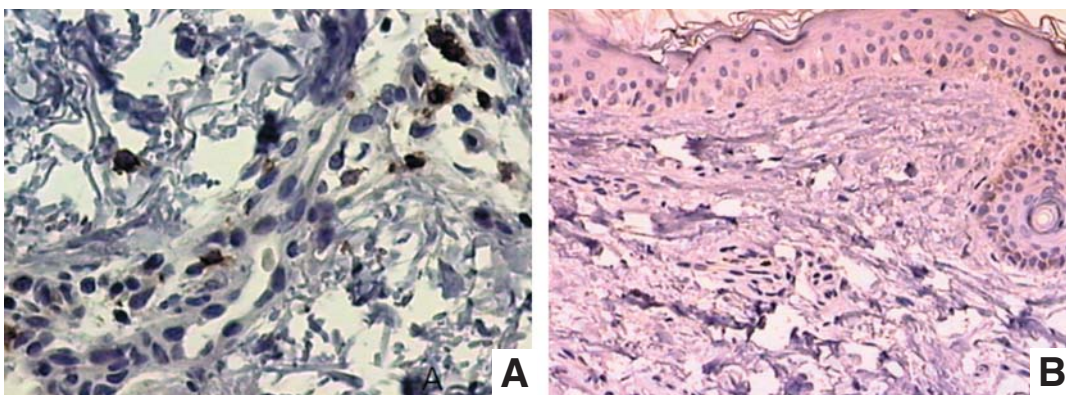


Figura 1: Corte histológico de pele antes do tratamento submetido à reação imunohistoquímica para anti-CD8. Células inflamatórias mononucleares com reação positiva (pigmento marrom) ao redor de vaso (A-pré-tratamento). Notar ausência de células CD8 positivas na derme (B- pós-tratamento). x340.

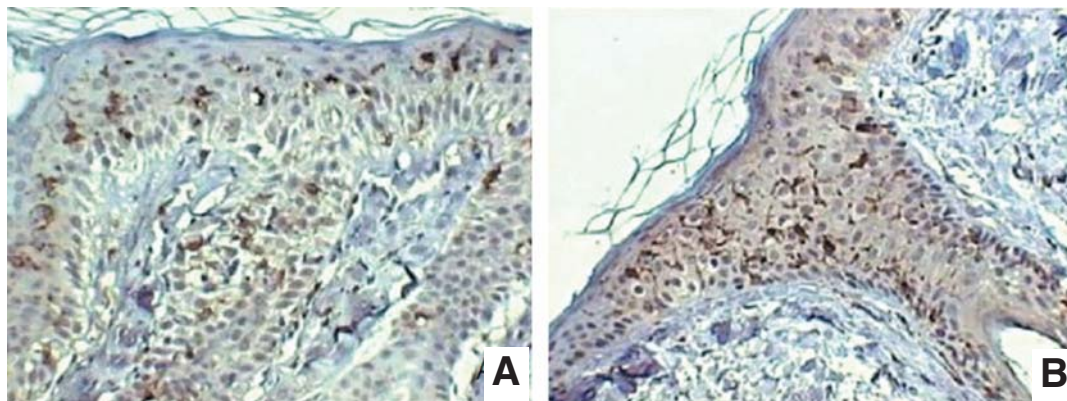


Figura 2: A e B - Corte histológico de pele 24 horas pós-tratamento submetido à imunohistoquímica para anti-CD1. Células de Langerhans marcadas em marrom na epiderme e foliculo piloso (A-pré-tratamento). Células de Langerhans marcadas em marrom na epiderme e foliculo piloso (B-pós-tratamento). x340.

TNF α na epiderme e aumenta a intensidade na derme.

A avaliação morfométrica foi semi-quantitativa avaliando a intensidade da reação imunohistoquímica na epiderme e derme separadamente. Comparando-se a intensidade de TNF α na epiderme nos três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré, 24 horas- pós, através do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos haver diferença significativa ($H=12,895$, $p=0,002$). Para melhor especificar as diferenças, aplicamos o método de comparação múltipla de Dunn, que revelou diferença altamente significativa entre intensidade de TNF α na epiderme antes e pós-tratamento, com redução no pós-tratamento ($Q=3,57$; $p<0,05$). O gráfico 4 mostra os resultados em gráfico de caixas, estando representado pela média dos valores dos casos estudados.

Comparando-se a intensidade de TNF α na derme nos três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré, 24 horas- pós, através do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos haver diferença significativa ($H=11,78$, $p=0,003$). Para melhor especificar as diferenças, aplicamos o método de comparação múltipla de Dunn, que revelou diferença altamente significativa entre intensidade de TNF α na derme antes e pós-tratamento, com aumento de TNF α no pós-tratamento ($Q=3,61$; $p<0,05$). O gráfico 5 mostra os resultados em gráfico de caixas, estando representado pela média dos valores dos casos estudados.

Em relação ao anticorpo IFN γ , verificamos não haver reação positiva tanto na derme como na epiderme nos três momentos de tratamento estudados (Figura 5 A e B).

A análise dos cortes histológicos submetidos à coloração de H.E. revelou células inflamatórias mononucleares presentes ao redor de vasos e anexos na derme. Comparando-se a intensidade de infiltrado inflamatório na derme nos três momentos estudados de um mesmo tratamento, pré, 24 horas- pós, por meio do Teste Estatístico não paramétrico de Análise de Variância de Kruskal-Wallis, observamos não haver diferença significativa ($H=1,11$, $p=0,572$).

DISCUSSÃO

Na histologia, após 5 a 15 minutos da TFD, ocorre vasodilatação e processo inflamatório agudo perivascular com neutrófilos, eosinófilos e mastócitos perivascular, mas o tumor não

apresenta alteração.^{1,13} Um a três dias após ocorre degeneração vacuolar da basal com focos de necrose da epiderme, processo inflamatório agudo com neutrófilos perivascular e dispersos e invasão de neutrófilos na epiderme. A vasodilatação e edema na derme são proeminentes. Infiltrado neutrofilico agudo pode ser visto nas glândulas sebáceas e estas podem apresentar degeneração de seus núcleos. Neste período o tumor ainda não apresenta alterações. No terceiro dia, ocorre degeneração hidrópica da camada basal, edema intracelular dos queratinócitos e os núcleos se tornam hiper cromáticos. O infiltrado inflamatório começa a apresentar características agudas e subagudas. No quarto dia, a necrose dos queratinócitos começa a resultar em degeneração reticular; tem início a necrose celular tumoral e inicia-se a regeneração das glândulas sebáceas. No sétimo dia ocorre a regeneração da pele que está completa 4-6 semanas pós TFD-ALA. Colorações específicas mostram reparação da zona subepidérmica com fibras colágenas paralelas a epiderme, diminuindo a massa elastótica pré-existente.¹³

A evolução das alterações histológicas neste trabalho foi igual às relatadas na literatura, onde se observou, em 24 horas, edema e vacuolização da camada basal e após 21 dias completa reestruturação da epiderme e neoformação de colágeno, mas a alteração do infiltrado inflamatório não foi significativa. O processo inflamatório agudo que se forma após a TFD, não foi observado neste trabalho sugerindo que este talvez ocorra com maior frequência no tratamento de tumores, onde o tempo de exposição ao ALA é maior e também na administração sistêmica, sendo a tópica responsável pela destruição através da formação do oxigênio “singlet”.

Os marcadores imunológicos foram escolhidos com o intuito de se definir um perfil de imunidade celular e humoral neste tratamento.

O estudo da morfologia e do comportamento das células de Langerhans após trauma térmico, exposição ao UV e trauma com fitas adesivas, mostra que estas desaparecem em 2 dias e retornam entre 11 e 15 dias.¹⁴⁻¹⁶ Neste trabalho, o número de CD1 não apresentou alterações significantes, embora a maioria das pacientes apresentasse uma diminuição, este resultado concorda com os trabalhos citados na literatura, onde a alteração destas células ocorre conforme o grau de ablação do procedimento.

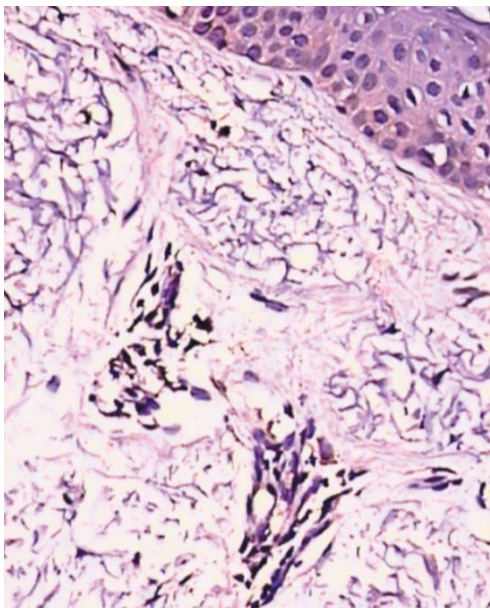


Figura 3: Corte histológico de pele antes do tratamento submetido à reação imunohistoquímica para anti-IL4. Notar ausência de reação positiva na epiderme e derme. x340.

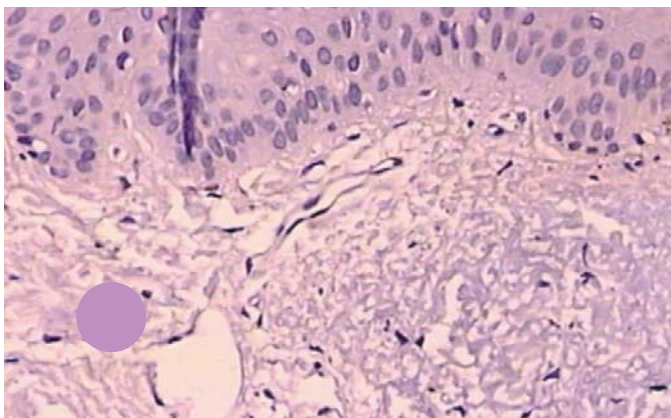


Figura 4: Corte histológico de pele ao final do tratamento submetido à reação imunohistoquímica para anti-IL4. Notar reação positiva (coloração marrom) na epiderme e nas células inflamatórias ao redor de vasos da derme. x340.

A diminuição da contagem de CD8 após 24 horas da primeira sessão não foi significativa, mas se tornou significativa com 21 dias da terceira sessão. Esta redução não é obtida por Abdel-Hady et al.,¹⁷ que encontra um aumento do CD8 nas áreas tratadas que apresentam uma resposta positiva em relação às áreas tratadas com resultado negativo. Por outro lado, Hryhorenko et al.^{18,19} relatam que a PpIX se acumula nos linfócitos ativadas e Gad (2001) apud Bissonete²⁰ relatam que após a TFD ocorre a apoptose destas células. Grebenova et al.²¹ relatam diminuição de 75% nos linfócitos após a TFD. A diminuição da contagem das células CD4 não foi significativa.

Esta diminuição da contagem das células CD4 e CD8 sugere uma apoptose dos linfócitos após a TFD, o que também é relatado com os trabalhos de Grebenova²¹ e Bissonette,²⁰ mas estes trabalhos se referem ao tratamento de tumores e não do fotoenvelhecimento, sobre o qual não há relatos de alterações do CD4 e CD8 na literatura. O aumento do CD8 relatado por Abdel-

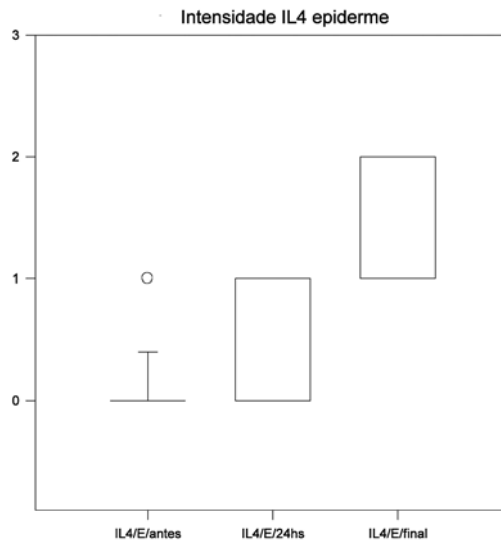


Gráfico 2: Gráfico de caixas mostrando a intensidade de IL4 na epiderme de pele pré (antes), 24 horas e ao final do tratamento.

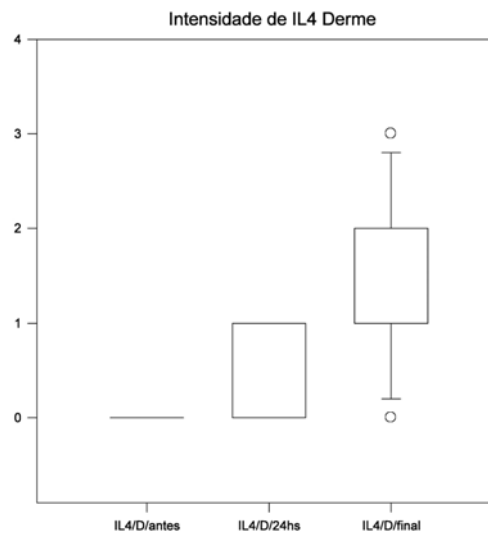


Gráfico 3: Gráfico de caixas mostrando a intensidade de IL4 na derme de pele pré (antes), 24 horas e ao final do tratamento.

Hady,¹⁷ pode estar relacionado ao controle da resposta celular presente na neoplasia intraepitelial cervical e quando o tratamento apresenta uma boa resposta, o tumor perde este controle.

O TNF α é um importante mediador de inflamação cutânea e é expresso em todos os processos inflamatórios da pele. Está presente em dois tipos de reações principalmente, efeitos pró-inflamatórios e indução da morte por apoptose. Os queratinócitos e fibroblastos dérmicos sintetizam grande quantidade de TNF α . Neste trabalho o resultado da expressão de TNF α mostrou diminuição significativa desta citocina na epiderme e aumento também significativo na derme. O aumento dérmico poderia justificar o estímulo dos fibroblastos, o que é evidenciado pelo aumento da fração de colágeno e fibra elástica, mas a sua diminuição na epiderme apenas pode ser justificada pelo aumento da IL4 na epiderme. O aumento da IL4 na derme pode não ter sido suficiente para inibição dos fibroblastos, já que não é a ação desta IL na derme, mas sim na epiderme. A apop-

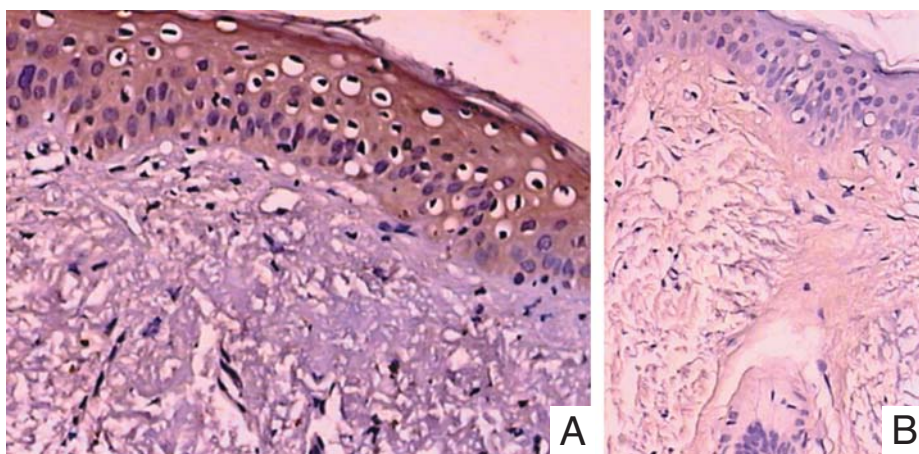


Figura 5: Corte histológico de pele antes do tratamento pré (A) e pós (B) submetido à reação imunohistoquímica para anti-TNF α . Notar reação positiva (coloração marrom) na epiderme e ausência na derme. x340.

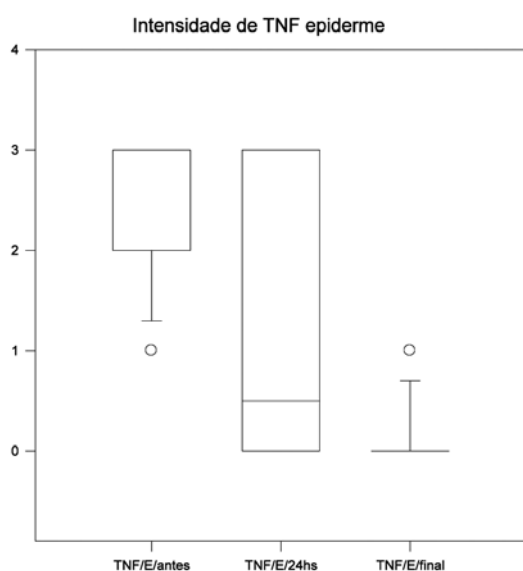


Gráfico 4: Gráfico de caixas mostrando a intensidade de TNF α na epiderme de pele pré (antes), 24 horas e ao final do tratamento.

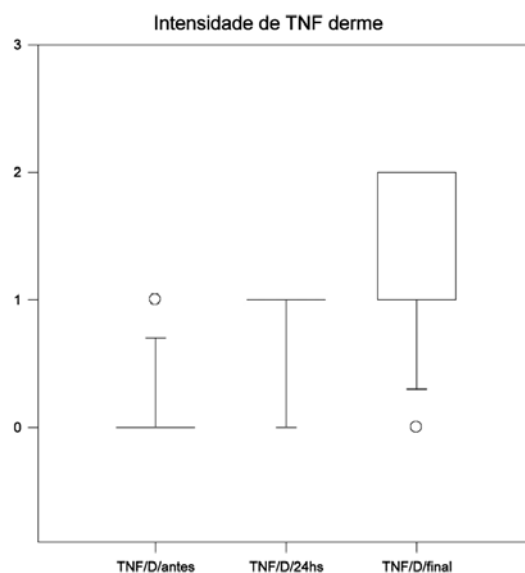


Gráfico 5: Gráfico de caixas mostrando a intensidade de TNF α na derme de pele pré (antes), 24 horas e ao final do tratamento.

tose das células CD4 e CD8 também pode estar relacionada ao aumento do TNF α na derme

A ação da IL4 é no crescimento e diferenciação para as células Th2. Inibe a IL1, IL6 e TNF α , além da expressão do ICAM1. A expressão de IL4 promove o desenvolvimento da resposta Th2 que está relacionada com as respostas das células B. Neste trabalho houve aumento da IL4 na epiderme e derme, podendo sugerir uma resposta do tipo Th2.

Neste trabalho não houve expressão do IFN γ . A produção do IFN γ está restrita a célula “natural killer”, linfócitos CD8, um subgrupo de linfócitos CD4, produzindo citocinas do tipo I (células Th1). Apresenta capacidade de modular a resposta imune, propriedades ativadoras dos macrófagos, aumenta a capacidade de apresentação de antígenos de células apresentadoras e induz moléculas de adesão como ICAM1 e VCAM1.¹⁴⁻¹⁶ O fato de não ocorrer a expressão do IFN pode estar relacionado à diminuição dos linfócitos CD4 e CD8 e aumento da IL4, que

determina uma resposta Th2, enquanto o IFN γ , Th1.

Outras investigações no tratamento do fotoenvelhecimento com a TFD-ALA serão necessárias na parte imunológica para melhor compreensão da modulação do sistema imune.

CONCLUSÕES

O estudo da pele humana fotoenvelhecida com três sessões de 20 minutos, com intervalo de 15 dias, de TFD-ALA tópico 20% Levulan[®] Kerastick,[™] com aparelho de LED com comprimento de onda de 630 nm cuja intensidade de saída era de 3100mw/cm², intensidade óptica de 100 mw/cm², com superfície ativa de 40x80mm emitindo luz com comprimento de onda de 630 nm 10 minutos em cada hemiface apresentou após o tratamento:

As células de Langerhans não apresentaram alterações sugerindo pouca imunossupressão local pelo procedimento.

Houve diminuição significativa na contagem da popula-

ção de linfócitos CD8 e não significativa na de CD4, sugerindo uma apoptose dos linfócitos.

Houve diferenças significantes na expressão do TNF- α , que se mostrou diminuída na epiderme e aumentada na derme. Esse aumento na derme pode estimular o fibroblasto.

Houve aumento significativo na expressão da interleucina 4, na epiderme e derme.

O IFN γ não apresentou alterações neste protocolo o que pode estar relacionado com a apoptose dos linfócitos.

A expressão positiva da IL4 e negativa do IFN sugere uma resposta do tipo Th2

O número de sessões (3), o intervalo entre elas, 15 dias, o tempo de exposição prévia de 2 horas, a concentração de 20% de ALA e o uso da luz vermelha de 630nm, mostraram-se eficazes, neste protocolo, no tratamento do fotoenvelhecimento clínico, assim como na estimulação da síntese de colágeno, de fibras elásticas e no sistema imune. ●

REFERÊNCIAS

- Skivka LM, Gorobets OB, Kutsenok VV, Lozinsky MO, Borisevich AN, Fedorchuk AG, et al. 5-aminolevulinic acid mediated photodynamic therapy of lewis lung carcinoma: a role of tumor infiltration with different cells of immune system. *Exp Oncol*. 2004;26(4):312-5.
- Uebelhoer NS, Dover JS. Photodynamic therapy for cosmetic applications. *Dermatol Ther*. 2005;18(3):242-52.
- Hong S-B, Lee M-H. Topical aminolevulinic acid-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005;21(6):322-5.
- Horio T, Horio O, Miyauchi-Hashimoto H, Ohnuki M, Isei T. Photodynamic therapy os sebaceous hyperplasia with topical 5-aminolaevulinic acid and slide projector. *Br J Dermatol*. 2003;148(6):1274-5.
- Alster T, Hirsch R. Single-pass CO2 laser skin resurfacing of light and dark skin: extended experience with 52 patients. *J Cosmet Laser Ther*. 2003;5(1):39-42.
- Gold MH, Goldman MP. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy: where we have been and where we are going. *Dermatol Surg*. 2004;30:1077-84.
- Nybaek H, Jemec GBE. Photodynamic therapy in the treatment of rosacea. *Dermatology*. 2005;211:135-8.
- Wong TW, Tracy E, Oseroff AR, Baumann H. Photodynamic therapy mediates immediate loss of cellular responsiveness to cytokines and growth factors. *Cancer Res*. 2003;63(13):3812-8.
- Korbelik M, Dougherty GJ. Photodynamic Therapy-mediated immune response against subcutaneous mouse tumors. *Cancer Res*. 1999;59(8):1941-6.
- Fitzpatrick TB. The validity and practicability of sunreactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988;124(6):869-71.
- Glogau RG. Chemical peeling and aging skin. *J Geriatric Dermatol*. 1994;2:30-5.
- Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*. 1981;29(4):577-88.
- Tosca AD, Balas CJ, Stefanidou MP, Katsantonis JC, Georgiou SK, Tzardi MN. Photodynamic treatment of skin malignancies with aminolevulinic acid. Emphasis on anatomical observations and in vivo erythema visual assessment. *Dermatol Surg*. 1996;22(11):929-34.
- Miyauchi S, Hashimoto K. Epidermal Langerhans cells undergo mitosis during the early recovery phase after ultra-violet B irradiation. *J Invest Dermatol*. 1987;88(6):703-8.
- Holzmann S, Koch F, Stroitzner P, Schmuth M, Janke K, Fritsch P, et al. Tape stripping leads to emigration of Langerhans cells from the epidermis, their entry into afferent lymphatics in vivo, and allows immigration of progenitors. *J Invest Dermatol*. 2000;114:228
- Kölgen W, Both H, van Weelden H, Guikers KLH, Bruijnzeel-Koomen CAFM, Knol EF, et al. Epidermal Langerhans cell depletion after artificial ultraviolet B irradiation of human skin in vivo: apoptosis versus migration. *J Invest Dermatol*. 2002;118(5):812-7.
- Abdel-Hady E-S, Martin-Hirsch P, Duggan-Keen M, Stern PL, Moore JV, Corbitt G, et al. Immunological and viral factors associated with the response of vulval intraepithelial neoplasia to photodynamic therapy. *Cancer Res*. 2001;61(1):192-6.
- Hryhorenko EA, Oseroff AR, Morgan J, Rittenhouse-Diakun K. Antigen specific and nonspecific modulation of the immune response by aminolevulinic acid based photodynamic therapy. *Immunopharmacology*. 1998;40(3):231-40.
- Hryhorenko EA, Oseroff AR, Morgan J, Rittenhouse-Diakun K. Deletion of alloantigen-activated cells by aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 1999;69(5):560-5.
- Bissonnette R, Tremblay J-F, Juzenas P, Boushira M, Lui H. Systemic photodynamic therapy with aminolevulinic acid induces apoptosis in lesional T lymphocytes of psoriatic plaques. *J Invest Dermatol*. 2002;119(1):77-83.
- Grebenova D, Cajthamlova H, Bartova J, Marinov J, Klamova H, Fuchs O, et al. Selective destruction of leukaemic cells by photo-activation of 5-aminolaevulinic acid-induced protoporphyrin-IX. *J Photochem Photobiol B*. 1998;47(1):74-81.